

# INFLUÊNCIA DO PREBIÓTICO MOS SOBRE OS EFEITOS DA DIETA CONTAMINADA COM A MICOTOXINA FUMONISINA B1 SOBRE OS RINS DE RATOS WISTAR

## Layane Pimenta Baldon

Discente de Medicina na Universidade Estadual de Maringá – UEM; E-mail: laybaldon@hotmail.com.

## Samara Emerich

Discente de Medicina na Universidade Estadual de Maringá – UEM.

## Nayra Thaís Delatorre Branquinho

Bacharel em Biologia na Universidade Estadual de Maringá – UEM.

## Christiano Rodrigues Chamber

Doutor em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular) na Universidade Estadual de Maringá – UEM.

## Maria Raquel Marçal Natali

Docente associada do Departamento de Ciências Morfológicas na Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá, PR.

## Edmara Aparecida Baroni

Docente associada do Departamento de Ciências Fisiológicas na Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá, PR.

**RESUMO:** Mananoligossacarídeos (MOS) são prebióticos que combatem os efeitos das micotoxinas. Fumonisinas B1 (FB1) são micotoxinas presentes em cereais. A ingestão de cereais contaminados com FB1 foi associada a danos renais, como inflamação e apoptose. Considerando esse contexto, este trabalho teve como objetivo estudar a influência do MOS sobre o efeito da FB1 nos rins de ratos Wistar. Os animais foram divididos em quatro grupos: F0M0 (n=8); F0M0,2 (n=8); F6M0 (n=8) e F6M0,2 (n=6). A dieta foi administrada por 42 dias. Após esse período, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas para coleta da urina. O sangue foi coletado. Os rins foram fixados e corados pelo Tricrômico de Masson. Constatamos que a administração da FB1, com ou sem MOS, não afetou o consumo de ração, o peso corporal e o crescimento dos animais. A normalidade nos níveis da creatinina plasmática sugere que a micotoxina não induziu lesão glomerular. Ingestão hídrica, osmolaridade e excreção urinária de sódio não sofreram alterações. No entanto, houve aumento significativo no volume urinário e na excreção urinária do potássio, e presença de focos com fibrose e infiltrado inflamatório, de intensidade leve, na região tubulointerstitiais do córtex externo dos animais que receberam a micotoxina.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fumonisina; MOS; Doença Renal Crônica.

## INFLUENCE OF THE PRE-BIOTIC MOS ON THE EFFECTS OF DIET CONTAMINATED WITH FUMONISIN MYCOTOXIN B1 ON WISTAR RATS' KIDNEYS

**ABSTRACT:** Mannan oligosaccharides (MOS) are pre-biotics that attack the effects of mycotoxins. Fumonisins B1 (FB1) are mycotoxins in cereals and the intake of FB1-contaminated cereals is associated with kidney damage such as inflammation and apoptosis. Current research investigates the influence of MOS on the effect of FB1 in the kidneys of Wistar rats. The animals were divided into four groups: F0M0 (n=8); F0M0,2 (n=8); F6M0 (n=8) and F6M0,2 (n=6). Diet was given for 42 days, after which the animals were placed in metabolic cages for the collection of urine. Blood was also collected and kidneys were fixed and stained with Masson's trichromium. FB1 with or without MOS did not affect ration intake, body weight and animal growth. Normality in plasmatic creatinine level suggests that mycotoxin did not trigger glomerular lesion. Water intake, osmolarity and urine excretion of sodium were not changed. However, there was a significant increase in urinary volume and in the urinary excretion of potassium, foci with fibrosis and small intensity inflammatory infiltrate in the tubulointerstitial region of the external cortex of animals with mycotoxin.

**KEY WORDS:** Fumonisins; MOS; Chronic Kidney Diseases.

## INTRODUÇÃO

Fumonisinás são micotoxinas produzidas por espécies de fungos pertencentes à *Fusarium*, que, quando ingeridas pelos animais de produção e seres humanos, levam prejuízos ao organismo como um todo (DINIZ, 2002). Essas substâncias foram descobertas em 1988, quando Gelderblom e colaboradores isolaram *F. verticillioides* a partir de amostras de milho *Transkei*. Desde então, mais de 28 análogos foram descritos, sendo a fumonisina B1 (FB1) a mais abundante, representando cerca de 70 a 80% (RHEEDER; MARASAS; VISMER, 2002; OLIVEIRA et al., 2007).

A ingestão de substratos contaminados por essas micotoxinas pode causar prejuízos a diversos sistemas do organismo, como o fígado, sistema nervoso e rins. A intoxicação pode ocorrer de forma direta, com a ingestão de produtos contaminados, ou ocorrer de forma indireta, quando subprodutos ou derivados são empregados na alimentação animal e de seres humanos (DINIZ, 2002). O fígado e o rim são os órgãos que retêm a maior parte das fumonisinas absorvidas (WILLIAMS et al., 2003).

O Brasil é um grande produtor de milho, sendo o Estado do Paraná responsável por 23,80% desta produção (CONAB, 2013). Porém, a cada 100 amostras de produtos a base de milho comercializados no Estado do Paraná, durante os anos de 2007 a 2010, 82% estavam contaminadas por FB1 e 52% com FB2 (MARTINS et al., 2012). O milho possui alto valor nutricional e constitui cerca de 30% da ração balanceada para animais monogástricos, além de estar presente como ingrediente de vários produtos destinados a alimentação humana. O consumo deste cereal ou de seus derivados tem sido associado com problemas de intoxicação por fumonisinas em animais e seres humanos (MARASAS, 2001).

Schamber (2013) observou que ratos wistar machos com 21 dias de vida, alimentados durante 42 dias com uma dieta contaminada com fumonisinas FB<sub>1</sub>+FB<sub>2</sub>, apresentaram menores valores de umidade na carcaça, caracterizando um quadro de desidratação provavelmente causado por lesão renal.

Alterações na estrutura renal induzidas por FB1, tanto na região glomerular como na tubulointersticiais, foram descritas por Theumer et al. em (2002). Esses

autores observaram que a necrose celular foi a alteração morfológica mais frequente.

Uma lesão renal inicial pode contribuir para o desenvolvimento da doença renal crônica (DRC), que se caracteriza por uma perda lenta, progressiva e irreversível da função renal. Na fase mais avançada da DRC, os rins não conseguem manter a normalidade do meio interno (PAIGE; NAGAMI, 2009).

Os mananoligossacarídeos (MOS) são carboidratos complexos derivados da parede celular de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*. São consideradas substâncias prebióticas, que levam em sua constituição um derivado complexo de glucomanoproteínas, com ação de inibir a multiplicação de patógenos, o que garante benefícios à saúde (SPRING, 2000; SONG; LI, 2001). As glicomanonas, em condições de pH do aparelho digestivo, são capazes de se ligar seletivamente e inativar as micotoxinas no lúmen intestinal (MADRIGAL-SANTILLÁN et al., 2006).

Os MOS modulam a flora intestinal, reduzem a taxa de renovação da mucosa intestinal (turnover) e estimulam o sistema imune (ALBINO et al., 2006), o que melhora e protege a mucosa, reduzindo lesões intestinais e propiciando maior altura dos vilos e profundidade da criptas intestinais (PELICANO et al., 2005). O aumento desta estrutura proporciona maior superfície de contato e, como consequência, um aumento na absorção dos nutrientes no lúmen intestinal (GARTNER; HIATT, 2001).

Considerando esse contexto, este estudo teve como objetivo estudar a influência do prebiótico MOS sobre o efeito da dieta contaminada com a micotoxina FB1 sobre os rins de ratos Wistar machos adultos.

## 2 METODOLOGIA

Foram utilizados ratos machos, linhagem Wistar, com 21 dias de idade e aproximadamente 250 gramas de peso corporal. Os animais foram mantidos à temperatura constante, em torno de 23°, com fotoperíodo controlado automaticamente (12 h claro/ 12 h escuro) e divididos em 4 grupos: F0M0 - n=8 (animais receberam ração sem FB1/sem MOS); F0M0,2 - n= 8 (receberam ração sem FB1/com 0,2% de MOS); F6M0 - n=8 (receberam ração com 6mg de FB1/kg de ração/ sem MOS); F6M0,2 - n= 6 (ração com 6mg de FB1/kg de ração/com 0,2% de MOS).

Os animais receberam a dieta por 42 dias. Após esse período, foram colocados na gaiola metabólica para mensuração da ingestão hídrica, do volume urinário de 24 horas e coleta da urina. Foi feita também a coleta do sangue para a dosagem da creatinina plasmática.

Para o sacrifício dos animais, foi usado o tiopental sódico (Thionembutal®), injetado intraperitonealmente na concentração de 40 mg/kg de peso corporal. Após o sacrifício, os rins foram fixados, desidratados, incluídos em parafina, cortados na espessura de 5µm e corados pelo Tricromico de Masson, para análise da região glomerular e tubulointerstitial. As imagens obtidas à microscopia de luz foram captadas por meio de vídeo-câmera (Moticam1000 – 1.3M Pixel USB 2.0) e transmitidas ao microcomputador.

A creatinina plasmática foi quantificada pela metodologia colorimétrica de ponto final (“Kit” Analisa), a proteinúria por método enzimático (“Kit” Analisa). O espectrofotômetro utilizado foi o Bioplus Bio-2000.

Para análise da osmolaridade urinária foi utilizado o osmômetro (VAPRO 5520) e para a quantificação do Na e K<sup>+</sup> da urina, utilizou-se o fotômetro de chama (B262).

A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa “Statistica” (*Data analysis software*

*system*, versão 7). Foi feita Análise de Variância (ANOVA) com tratamento pós *boc* do teste Tukey HSD (*Honest Significant Difference*), com confirmação pelo Teste “t” de Student.

Os experimentos foram realizados de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pela Comissão de Ética Animal da Universidade Estadual de Maringá (CEAE) (Protocolo nº 068/2009).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 CONSUMO DE RAÇÃO, PESO CORPORAL E COMPRIMENTO NASOANAL

A análise do consumo de ração mostrou que não houve diferença significativa entre os grupos (Tabela 1), sugerindo que a contaminação da ração com fumonisina B1, com ou sem MOS, não interferiu no padrão de ingestão alimentar.

A análise do peso corporal e comprimento nasoanal mostrou uniformidade (Tabela 2). Portanto, a ingestão da micotoxina, com ou sem a adição do MOS,

**Tabela 1.** Consumo de ração dos ratos dos grupos F0M0 (sem FB1/sem MOS - n=8), F0M0,2 (sem FB1/com 0,2% MOS – n=8), F6M0 (com 6mg de FB1/kg de ração/ sem MOS - n=8) e F6M0,2 (com 6mg de FB1/kg de ração/com 0,2% MOS – n=6).

Grupos	Consumo de ração (g/dia)			
	Primeira semana	Segunda semana	Penúltima semana	Última semana
F0M0	10,03 ± 0,3770 <sup>a</sup>	12,50 ± 0,3780 <sup>a</sup>	19,13 ± 0,3536 <sup>a</sup>	20,13 ± 0,5175 <sup>a</sup>
F0M0,2	10,09 ± 0,4970 <sup>a</sup>	12,44 ± 0,4173 <sup>a</sup>	19,00 ± 0,4629 <sup>a</sup>	20,13 ± 0,6409 <sup>a</sup>
F6M0	10,00 ± 0,3780 <sup>a</sup>	12,63 ± 0,5175 <sup>a</sup>	19,38 ± 0,3536 <sup>a</sup>	20,56 ± 0,4173 <sup>a</sup>
F6M0,2	10,50 ± 0,4472 <sup>a</sup>	12,50 ± 0,4472 <sup>a</sup>	19,08 ± 0,4916 <sup>a</sup>	20,58 ± 0,5845 <sup>a</sup>

Resultados expressos pela média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significante (p<0,05).

**Tabela 2.** Peso corporal e comprimento nasoanal dos ratos dos grupos F0M0 (sem FB1/sem MOS - n=8), F0M0,2 (sem FB1/com 0,2% MOS – n=8), F6M0 (com 6mg de FB1/kg de ração/ sem MOS - n=8) e F6M0,2 (com 6mg de FB1/kg de ração/com 0,2% MOS – n=6).

Grupos	Peso corporal (g)		Comprimento Nasoanal (cm)	
	Inicial	Final	Inicial	Final
F0M0	42,38 ± 5,370 <sup>a</sup>	244,8 ± 20,25 <sup>a</sup>	10,94 ± 0,6232 <sup>a</sup>	21,38 ± 0,5175 <sup>a</sup>
F0M0,2	42,38 ± 5,069 <sup>a</sup>	244,1 ± 19,53 <sup>a</sup>	10,94 ± 0,6232 <sup>a</sup>	21,38 ± 0,5175 <sup>a</sup>
F6M0	46,75 ± 4,027 <sup>a</sup>	239,6 ± 7,190 <sup>a</sup>	11,44 ± 0,5630 <sup>a</sup>	21,13 ± 0,6409 <sup>a</sup>
F6M0,2	42,50 ± 4,324 <sup>a</sup>	239,2 ± 13,93 <sup>a</sup>	10,92 ± 0,7360 <sup>a</sup>	21,58 ± 0,4916 <sup>a</sup>

Resultados expressos pela média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significante (p<0,05).

na dose e períodos estudados, também não provocou alteração nem no ganho de peso corporal e nem no crescimento dos animais. Tais resultados são compatíveis aos resultados do estudo feito por Theumer et al. (2002) com ratos Wistar, no qual a dieta dos animais foi suplementada com FB1 na concentração de 100 ppm por 30 e 60 dias.

### 3.2 CREATININA PLASMÁTICA

Foram constatados níveis normais de creatinina plasmática em todos os grupos (F0M0 = 0,5375 mg/dL; F0M0,2 = 0,5400 mg/dL; F6M0 = 0,04629 mg/dL e F6M0,2 = 0,04472 mg/dL).

A creatinina plasmática é um marcador de função glomerular por ser livremente filtrada nos glomérulos e não sofrer reabsorção. Dessa forma, para que a creatinina seja depurada de maneira adequada, os glomérulos devem ter sua funcionalidade preservada. Vários estudos obtiveram como resultado o aumento na creatinina plasmática em diferentes modelos animais quando expostos à FB1 de forma aguda (BONDY et al.,2000; GELDERBLUM et al.,2001; ORSI et al., 2009).

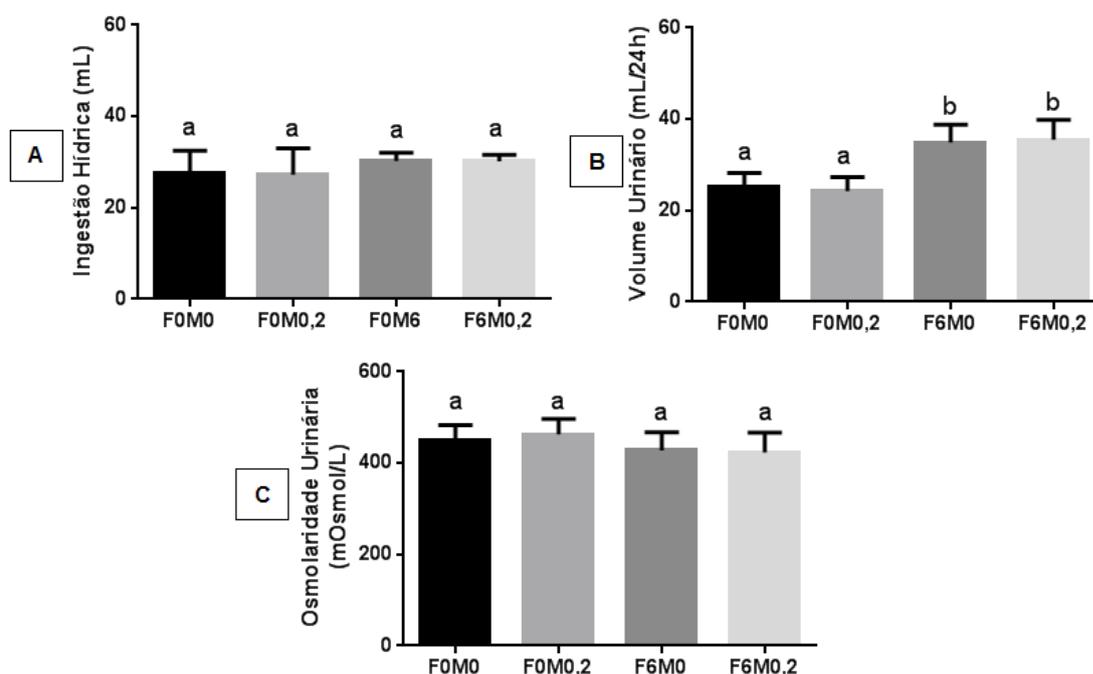
A administração oral em dose única da FB1 em coelhos, na concentração de 31.5 mg, provocou aumento

da creatinina plasmática em 7 dias e da proteinúria em 72 horas (ORSI et al.,2009). Estudo realizado por Gelderblom et al.(2001), com a administração de FB1 na dose de 10 e 25 mg FB1/Kg, por 24 meses, em ratos machos da linhagem BD IX, mostrou elevação da creatinina plasmática.

Nossos resultados não evidenciaram alterações na creatinina plasmática nos animais que receberam micotoxina. Tal diferença de resultados, em relação aos outros estudos, pode ter ocorrido devido à forma aguda de administração da toxina nos outros estudos, ou devido à diferença dos modelos de animais e até mesmo devido à via de administração e doses maiores da toxina. Usamos a dose de 6mg de FB1/kg de ração por ser uma dose próxima dos níveis de contaminação dos alimentos presentes no mercado brasileiro (MALLMANNR et al., 2001; CRUZ, 2011).

### 3.3 INGESTÃO HÍDRICA, VOLUME URINÁRIO E OSMOLARIDADE URINÁRIA

A ingestão hídrica dos animais de todos os grupos não foi estatisticamente diferente (Figura 1-A). Porém, a administração da toxina promoveu um aumento significativo ( $p=0,00016$ ) no volume urinário de 24



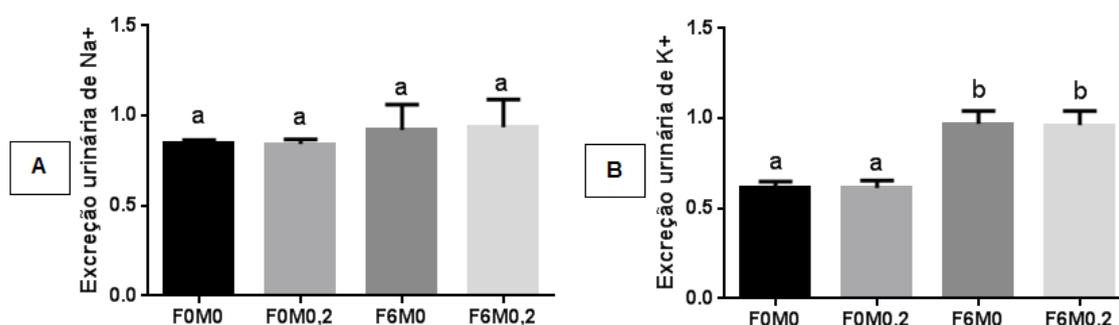
**Figura 1.** Ingestão hídrica (fig. 1-A), volume urinário (fig. 1-B) e osmolaridade urinária (fig. 1-C) dos ratos dos grupos F0M0 (sem FB1 e sem MOS - n=8), F0M0,2 (sem FB1 e com 0,2% MOS - n=5), F6M0 (com 6mg de FB1/kg de ração - n=8) e F6M0,2 (com 6mg de FB1/kg de ração e com 0,2% MOS - n=6). Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa.

horas nos grupos F6M0 e F6M0, 2 quando comparados ao grupo controle F0M0 e F0M0, 2 (Figura 1-B). Uma hipótese provável para tal alteração é que o aumento no volume urinário ocorra de forma transitória devido à capacidade de adaptação funcional do rim, com recuperação após um breve período de poliúria. Suzuki et al. (1995) observou aumento significativo transitório no volume urinário nos animais que receberam a ração com FB1 (nas doses de 7 e 10 mg/kg), que retornou para níveis normais no 4º dia após a administração de 10 mg de FB1/Kg.

A análise da osmolaridade urinária mostrou que não houve diferença significativa entre os grupos, nem nos grupos que apresentaram aumento do volume

pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona, sistema nervoso simpático e peptídeos natriuréticos, entre outros (GUYTON; HALL, 2011).

Foi observado aumento significativo ( $p=0,00044$ ) na excreção urinária do  $K^+$  nos grupos que receberam 6 mg de FB1, com ou sem adição do MOS (Figura 2-B). Portanto, a adição de 0,2% do MOS na dieta não foi capaz de impedir a ação da FB1. Tal achado encontra-se de acordo com o fato de nestes mesmos grupos ter ocorrido um aumento do volume urinário com manutenção da osmolaridade urinária, ou seja, o aumento na excreção de potássio seria o fator que impediu que a osmolaridade não caísse diante de um aumento do volume urinário.



**Figura 2.** Excreção urinária de  $Na^+$  (fig. 3-A) e  $K^+$  (fig. 3-B) ratos dos grupos F0M0 (sem FB1 e sem MOS -  $n=8$ ), F0M0,2 (sem FB1 e com 0,2% MOS -  $n=5$ ), F6M0 (com 6mg de FB1/kg de ração -  $n=8$ ) e F6M0,2 (com 6mg de FB1/kg de ração e com 0,2% MOS -  $n=6$ ). Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Letras iguais indicam que não há diferença estatística significativa.

urinário de 24h (Figura 1-C). No estudo de Suzuki et al. (1995), o aumento do volume urinário foi acompanhado pela diminuição da osmolaridade urinária, sendo que a queda da osmolaridade urinária nos animais que receberam a dose de 10 mg de FB1/kg ocorria até o 3º dia.

### 3.4 EXCREÇÃO URINÁRIA DE $Na^+$ e $K^+$

Não houve diferença significativa entre os grupos quando analisada a excreção urinária do  $Na^+$  (Figura 2-A). O sódio é o principal cátion do líquido extracelular (LEC), tendo os rins como sua principal via de excreção. O equilíbrio hídrico do líquido extracelular (LEC) é realizado através da excreção ou conservação do sódio pelos rins, mecanismos esses regulados

A excreção urinária de potássio é um parâmetro importante para a análise da função tubular renal, pois os rins são importantes na manutenção da concentração corporal de potássio, através da reabsorção e/ou da secreção do  $K^+$  realizadas nos túbulos distais e coletores (STANTON; KOEPPEN, 2009).

Acredita-se que a FB1 interfira na secreção e reabsorção tubular de moléculas orgânicas, dependentes do transporte iônico ao longo do néfron. A interrupção do metabolismo de esfingolípídeos, desencadeada por FB1, altera as estruturas da membrana celular, prejudicando a funcionalidade dos seus transportadores, refletindo em desequilíbrio na excreção renal de alguns íons (SUZUKI et al., 1995). A FB1 pode ter alterado a função de transporte do potássio na região tubulointersticial, o que gerou o aumento significativo na excreção urinária de tal íon nos

animais que receberam a micotoxina nas doses de 6mg/kg de ração.

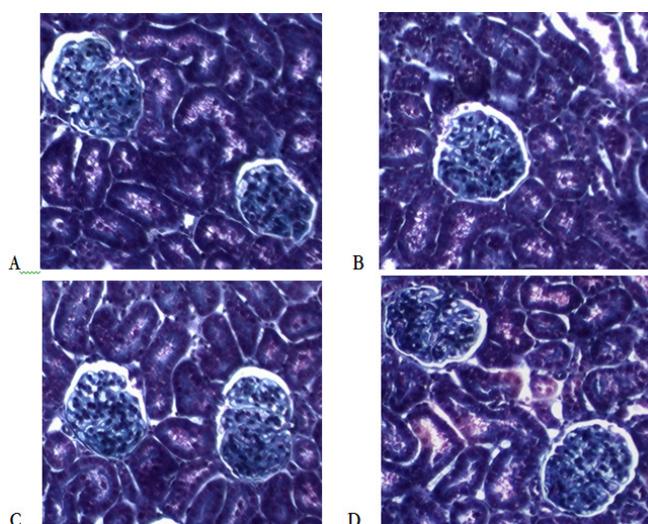
### 3.5 PROTEINÚRIA

Com relação à presença de proteína na urina (proteinúria), observamos que todos os grupos apresentaram valores normais, sem diferença estatística entre eles: grupo FOM0 = 3,438 mg/24h, FOM0,2 = 3,167 mg/24h, F6M0 = 3,563 mg/24h e F6M0,2 = 3,250 mg/24h.

A proteinúria também é um parâmetro utilizado para avaliar a função glomerular. Quando a membrana de filtração glomerular está íntegra, a presença de glicoproteínas com cargas negativas restringe a filtração de proteínas plasmáticas com igual carga. Qualquer processo que diminua a quantidade de cargas negativas presentes nessa membrana provoca aumento na filtração de proteínas (WIDMAIER; HERSHEL et al., 2006; STANTON; KOEPPEN, 2009).

### 3.6 ANÁLISE HISTOLÓGICA DO TECIDO RENAL

A análise da região glomerular não mostrou presença nem de infiltrado inflamatório nem de esclerose, em nenhum dos grupos analisados (FOM0, FOM0,2, F6M0 e F6M0,2) (Figura 3).



**Figura 3.** Cortes histológicas do córtex renal de ratos Wistar corados pelo Tricrômico de Masson. Aumento original: 10x.

Imagens representando a região glomerular dos ratos dos grupos: A) FOM0, B) FOM0,2 C) F6M0 e D) F6M0,2. Observar nas quatro imagens, glomerúlos com alças bem preservadas, sem infiltrado inflamatório e esclerose.

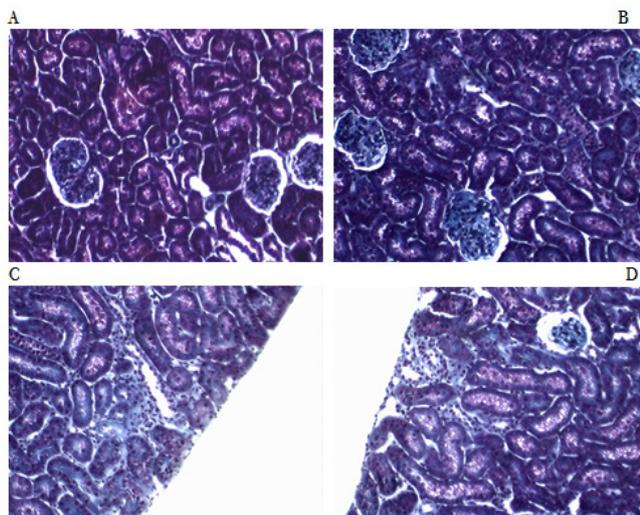
O glomérulo é uma rede de capilares recobertos por células epiteliais. A parede capilar glomerular é a membrana de filtração, que consiste numa fina camada de células endoteliais fenestradas, uma membrana basal glomerular (MBG) e células epiteliais viscerais denominadas podócitos (RIELLA, 2003; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004; GUYTON; HALL, 2011).

No estágio inicial de qualquer glomerulopatia, vários grupos celulares (principalmente monócitos e macrófagos) e mediadores (fatores de crescimento, complemento, citocinas, moléculas de adesão, etc.) são ativados no interstício, levando a inflamação e esclerose renal (RODRÍGUEZ-ITURBE; JOHNSON; HERRERA-ACOSTA, 2005; BOGLIOLO; BRASILEIRO, 2006). Em patologias onde o glomérulo é o alvo inicial, a lesão glomerular muitas vezes não justifica o grau de comprometimento funcional renal.

Outra estrutura importante do néfron é a região tubulointersticial. Após o filtrado glomerular entrar nos túbulos renais, ele flui através de porções sucessivas do túbulo. Ao longo desse curso, algumas substâncias são reabsorvidas seletivamente de volta para o sangue, enquanto outras são secretadas do sangue para o lúmen tubular.

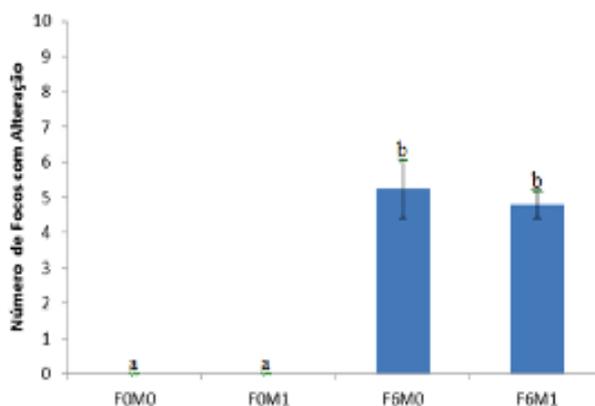
O interstício renal engloba tudo o que se encontra no espaço extravascular e intertubular do rim. Há evidências de que o interstício, além de fornecer suporte estrutural, também funciona como modulador de quase todas as trocas que ocorrem ao longo dos vasos capilares e túbulos do parênquima renal. Além disso, produz fatores autacóides e hormônios de ação local, como a adenosina e a prostaglandina, e sistêmica, como a eritropoetina (GARTNER; HIATT, 2001; RIELLA, 2003; KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

Quando analisamos a região tubulointersticial, observamos a presença de focos com infiltrado inflamatório e fibrose, de intensidade leve, em ambos os grupos que receberam a fumonisina (F6M0 e F6M0,2) (Fig 4-C e 4-D). Esses focos estavam presentes na região do córtex externo, região que recebe maior suprimento sanguíneo.



**Figura 4.** Cortes histológicas do córtex renal de ratos Wistar corados pelo Tricrômico de Masson. Aumento original: 10x. Imagens representando a região tubulointersticial dos ratos dos grupos: A) F0M0, B) F0M0,2, C) F6M0 e D) F6M0,2. Observar foco com infiltrado inflamatório e fibrose no córtex externo em C e D.

A quantificação do número de focos com infiltrado inflamatório e fibrose mostrou que os animais que receberam a fumonisina sem MOS (F6M0) apresentaram uma média de  $5,25 \pm 0,83$  focos com alteração na região tubulointersticial, e os do grupo F6M0,2 uma média de  $4,80 \pm 0,40$  focos, sem diferença significativa ( $p = 0,3775$ ) entre eles (Figura 5).



**Figura 5.** Número de focos com alterações na região tubulointersticial do tecido renal dos ratos dos grupos: F0M0 (n=5); F0M0,2 (n=5); F6M0 (n=5) e F6M0,2 (n=5). Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

O espaço intersticial normal é compacto, sendo ocupado pelos capilares peritubulares fenestrados e um pequeno número de células semelhantes a fibroblastos. Qualquer expansão evidente do interstício

cortical geralmente é anormal. Essa expansão pode ser devida a edema ou infiltração por células inflamatórias agudas, como nas doenças intersticiais, ou pode ser causada por acúmulo de células inflamatórias crônicas e tecido fibroso, como nas doenças intersticiais crônicas (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005). Agressões tóxicas e/ou infecciosas no interstício são associadas a processos imunológicos caracterizados pela presença de infiltrado mononuclear, que produz citocinas e outros mediadores de amplificação da inflamação. Dessa agressão inicial pode resultar lesão crônica irreversível, caracterizada por fibrose intersticial e atrofia tubular (RIELLA, 2003).

O dano tubulointersticial está intimamente relacionado com a redução na taxa de filtração glomerular (TFG) (RODRÍGUEZ-ITURBE; JOHNSON; HERRERA-ACOSTA, 2005). Uma questão que se relaciona ao mecanismo através do qual uma lesão predominantemente tubulointersticial leva à queda da filtração glomerular pode ser uma obstrução tubular, com aumento da pressão intratubular e queda “mecânica” da filtração glomerular. Outra possibilidade seria a de aumento da resistência vascular pós-glomerular causada por edema e inflamação intersticial, levando à isquemia desse compartimento. Um terceiro mecanismo seria o de insuficiência tubular consequente a atrofia tubular e inflamação intersticial causando diminuição da absorção de solutos pelos segmentos tubulares mais comprometidos e consequente diminuição do gradiente osmótico renal, queda da reabsorção tubular de água e formação de urina hipoosmolar. Esta insuficiência tubular seria “compensada” por queda da filtração glomerular (RIELLA, 2003; GUYTON; HALL, 2011).

Estudos comparativos da toxicidade das fumonisinas em diferentes animais levaram a concluir que o principal órgão alvo difere em cada espécie; contudo, certos órgãos, incluindo o fígado e o rim, parecem ser afetados de forma constante, sendo hepatotóxica em todos os animais testados (ratos, camundongos, coelhos, macacos, porcos e cavalos) e nefrotóxica em ratos, coelhos, porcos e camundongos (ENONGENE et al., 2000). O rim retém a maior parte das fumonisinas absorvidas (WILLIAMS et al., 2003).

Diets com mananoligossacarídeos (MOS) podem aumentar a população cecal de lactobacilos e de

bifidobactérias e reduzir a concentração de *Escherichia coli* (BAURHOO et al., 2009). É importante ressaltar que, a partir de componentes proteicos dos lactobacilos, são produzidas bacteriocinas capazes de ação semelhante à antibióticos e as bifidobactérias produzem ácidos orgânicos e outras substâncias bactericidas (DENIPOTE et al., 2010) capazes de suprimir a colonização intestinal por microrganismos patogênicos e, conseqüentemente, proporcionar melhora da integridade da mucosa intestinal no aproveitamento dos nutrientes das dietas. Além disso, lactobacilos e bifidobactérias competem com microrganismos patogênicos por nutrientes e sítios de ligação, o que reduz a população de patógenos (ROLFE, 2000).

O MOS também apresenta propriedades imunomoduladoras (SHASHIDHARA; DEVEGOWDA, 2003), pois em níveis elevados aumentam a resposta dos anticorpos protetores e melhoram a resistência a doenças reduzindo a resposta aguda (SILVA et al., 2009). Nossos resultados mostraram que a administração de ração contaminada pela FB1 (6mg/Kg) e suplementada com 0,2% do prebiótico MOS não melhorou a incidência de infiltrado inflamatório e fibrose na região tubulointerstitial dos rins de ratos Wistar machos.

O mecanismo de ação das fumonisinas ainda não é completamente conhecido. No entanto, essas micotoxinas são estruturalmente similares a esfingosina. Assim, de acordo com Wang, Norred e Bacon (1991), o mecanismo de toxicidade consiste na inibição da ceramida sintetase, enzima responsável pela síntese de esfingolípídios. Reconhecendo a importância dos esfingolípídios nos processos regulatórios celulares, incluindo aqueles relacionados à proliferação e apoptose, investigadores propuseram que a inibição da ceramida sintase é um passo crítico no mecanismo tóxico da fumonisina, levando a diferentes efeitos citotóxicos (DILKIN et al., 2004) ou neoplásicos (IARC, 2002).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ingestão de ração contaminada com a micotoxina fumonisina B1, na dose de 6 mg/kg de ração por 42 dias, provocou aumento significativo na excreção

urinária do K<sup>+</sup>. A suplementação com o prebiótico MOS não reverteu esse efeito.

O prebiótico MOS também não teve efeito protetor sobre as alterações na região tubulointerstitial, caracterizadas pela presença de infiltrado inflamatório e fibrose, provocadas pela ingestão de ração contaminada pela micotoxina FB1, na dose de 6 mg/Kg de ração. Essas alterações foram observadas na região do córtex externo, a que possui maior suprimento sanguíneo.

#### REFERÊNCIAS

- ALBINO, L. F. T. et al. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p. 742-749, 2006.
- BAURHOO, B. et al. Purified cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* increases protection against intestinal pathogens in broiler chickens. **International Journal of Poultry Science**, Quebec, v. 8, n. 2, p. 133-137, 2009.
- BOGLIOLO, L.; BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo patologia**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- BONDY, G. et al. Fumonisin B1 toxicity in male Sprague-Dawley rats. **Adv Exp Med Biol**, Ottawa, v. 392, p. 251-264, 2000.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, sexto levantamento**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, 2013.
- CRUZ, J. **Ocorrência de aflatoxinas e fumonisinas em produtos à base de milho e milho utilizado como ingrediente de ração para animais de companhia**. 2011. 73f. Tese (Doutorado em Engenharia de alimento) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Pirassununga, 2011.
- DENIPOTE, F. G. et al. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 47, n. 1, p. 93-98, 2010.

- DILKIN, P. et al. Intoxicação experimental de suínos por fumonisinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 175-181, 2004.
- DINIZ, S. P. S. S. **Micotoxinas**. Campinas: Rural, 2002.
- ENONGENE, E. N. et al. Disruption of sphngolipid metabolism in small intestines, liver, and kidney of mice doses subcutaneously with fumonisin B(1). **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 38, n. 9, p. 793-1799, 2000.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Color textbook of histology**. 2. ed. Baltimore: Saunders, 2001.
- GELDERBLOM, W. C. A. et al. Toxicological effects in rats chronically fed low dietary levels of fumonisin B1. **Toxicology**, Tygerberg, v. 161, n. 1-2, p. 39-51, 2001.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- IARC. **Mongraphs on the evaluation of carcinogenic risk to humans: some traditional medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene**. Lyon: IARC Press, 2002.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Robbins e Cotran: patologia: bases patológicas das doenças**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.
- MADRIGAL-SANTILLÁN, E. et al. Antigenotoxic effect of *Saccharomyces cerevisiae* on the damage produced in mice fed with aflatoxin B1 contaminated corn. **Food and Chemical Toxicology**, Sto Tomás, v. 44, p. 2058-2063, 2006.
- MALLMANNR CA, et al. Fumonisin B1 levels in cereals and feeds from southern Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 41-45, 2001.
- MARASAS, W. F. O. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical perspective. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, p. 239-243, 2001.
- MARTINS, F. A. et al. Daily intake estimates of fumonisins in corn-based food products in the population of Paraná, Brazil. **Food Control**, v. 26, p. 614-618, 2012.
- OLIVEIRA, C. A. F. et al. Efeito da ingestão de fumonisina B1 no peso corporal e na histopatologia de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 284-287, 2007.
- ORSI, R. B. et al. Acute toxicity of a single gavage dose of fumonisin B1 in rabbits. **Chemico-Biological Interactions**, São Paulo, v. 179, n. 2-3, p. 351-355, 2009.
- PAIGE, N. M.; NAGAMI, G. T. The top 10 Things nephrologists wish every primary care physician knew. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 84, n. 2, p. 180-186, 2009.
- PELICANO, E. R. L. et al. Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Jaboticabal, v. 7, n. 4, p. 221-229, 2005.
- RHEEDER, J. P.; MARASAS, W. F. O.; VISMER, H. F. Production of fumonisin analogs by fusarium species. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 5, p. 2101-2105, 2002.
- RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003
- RODRÍGUEZ-ITURBE, B.; JOHNSON, R. J.; HERRERA-ACOSTA, J. Tubulointerstitial damage and progression of renal failure. **Kidney International**, v. 68, n. 99, p. 82-86, 2005.
- ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **Journal of Nutrition**, Lubbock, v. 130, p. 396-402, 2000.
- SCHAMBER, C. R. **A toxicidade das fumonisinas FB<sub>1</sub>+FB<sub>2</sub> e efeitos prébiotico e adsorvente do mananoligossacarídeo (MOS) expresso em características nutricionais, sanguíneas e morfofisiológicas intestinais, diferem entre espécies: análise em ratos Wistar e tilápias do Nilo**. 2013. 90f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2013.

- SHASHIDHARA, R. G.; DEVEGOWDA, G. Effect of dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. **Poultry Science**, Hebbal, v. 82, n. 8, p. 1319-1325, 2003.
- SILVA, V. K. et al. Humoral immune response of broilers fed diets containing yeast extract and prebiotics in the prestartes phase and raised at different temperatures. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 18, p. 530-540, 2009.
- SONG, J. Y.; LI, W. F. The preparation of mannan-oligosaccharide from *Saccharomyces cerevisiae* and its effect on intestinal microflora in chicken. **Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Science)**, Zhejiang, v. 27, p. 447-450, 2001.
- SPRING, P. Yeast's secret weapon aids animal production. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: [s.n.], 2000. p. 41-50.
- STANTON, B. A.; KOEPPEN, B. M. Sistema renal. In: BERNE; LEVY: *Fisiologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 561- 656, 2009
- SUZUKI, C. A. M. et al. The effects of fumonisin B1 on several markers of nephrotoxicity in rats. **Toxicology and applied Pharmacology**, Ottawa, v. 133, n. 2, p. 207-214, 1995.
- THEUMER, M. G. et al. Immunobiological effects of fumonisin B1 in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Córdoba, v. 9, n. 1, p. 149–155, 2002.
- WANG, E.; NORRED, W. P.; BACON, C. W. Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. **Journal Biological Chemistry**, Atlanta, v. 266, n. 22, p. 1486-1490, 1991.
- WIDMAIER, E. P., HERSHEL, R. K. T. Vander, Sherman & Luciano: **Fisiologia humana: os mecanismos das funções corporais**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- WILLIAMS, L. D. et al. Leaching and binding of fumonisins in soil microcosms. **J. Agric. Food. Chem.** Atlanta, v. 51, n. 3, p. 685-690, 2003.

*Recebido em: 13 de junho de 2013*

*Aceito em: 13 de novembro de 2013*